

**KUALITAS SEMEN CAIR SAPI
MADURA PADA BERBAGAI
FORMULASI PENGECER DASAR AIR
KELAPA HIJAU MUDA SELAMA
PENDINGINAN 2-5 °C**

SKRIPSI

Oleh :

Jois Harsa

NIM. 165050109111042



**PROGRAM STUDI PETERNAKAN
FAKULTAS PETERNAKAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2018**

**KUALITAS SEMEN CAIR SAPI
MADURA PADA BERBAGAI
FORMULASI PENGENCER DASAR
AIR KELAPA HIJAU MUDA SELAMA
PENDINGINAN 2-5 °C**

SKRIPSI

**Oleh :
Jois Harsa
NIM. 165050109111042**

Skripsi ini merupakan salah satu syarat untuk
memperoleh gelar Sarjana pada Fakultas Peternakan
Universitas Brawijaya

**PROGRAM STUDI PETERNAKAN
FAKULTAS PETERNAKAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2018**

**KUALITAS SEMEN CAIR SAPI MADURA
PADA BERBAGAI FORMULASI
PENGENCER DASAR AIR KELAPA HIJAU
MUDA SELAMA PENDINGINAN 2-5 °C**

SKRIPSI

Oleh :

Jois Harsa

NIM. 165050109111042

RIWAYAT HIDUP

Penulis dilahirkan di Desa Samudrajaya Kecamatan Caringin Kabupaten Garut pada tanggal 05 Desember 1995 sebagai putra ke dua dari delapan bersaudara dari pasangan Bapak Dadang Hermawan dan Ibu Suryamah. Pendidikan formal yang pernah ditempuh adalah SDN 1 Cimahi Garut pada tahun 2001-2007, melanjutkan ke SMPN 1 Bungnulang Garut pada tahun 2007-2010, melanjutkan ke SMKN 5 Pangalengan Bandung pada tahun 2010-2013 dan melanjutkan kuliah di Diploma 3 Institut Pertanian Bogor pada tahun 2013 melalui Undangan Seleksi Masuk IPB (USMI). Selama menjadi mahasiswa, penulis pernah melaksanakan Praktek Kerja Lapang pertama di PT Austasia Stockfeed jabung lampung pada tahun 2014 dan Praktek Kerja Lapangan kedua di PT Ultra Peternakan Bandung Selatan (UPBS) pada tahun 2016. Beasiswa yang pernah didapatkan selama kuliah yaitu beasiswa Peningkatan Prestasi Akademik (PPA) tahun 2014, beasiswa FRESH pada tahun 2015 dan beasiswa Supersemar tahun 2015.

Melanjutkan kuliah di Fakultas Peternakan Universitas Brawijaya melalui Seleksi Alih Program (SAP) pada tahun 2016. Penulis aktif pada UKM Mt-Funa dan pernah menjabat sebagai *staff* kewirausahaan periode 2016-2017 dan aktif di organisasi Kesatuan Aksi Mahasiswa Muslim Indonesia (KAMMI) sebagai divisi sosial kemasyarakatan (SOSMA) pada tahun 2016-2017.

Penulis mengikuti kepanitiaan mentor mahasiswa baru di Universitas Brawijaya pada tahun 2017 dan mendapatkan beasiswa Peningkatan Prestasi Akademik (PPA) pada tahun 2018. Penulis menyelesaikan tugas akhir dengan judul “Kualitas Semen Cair Sapi Madura Pada Berbagai Formulasi Pengencer Dasar Air Kelapa Hijau Muda Selama Pendinginan 2-5°C”.

KATA PENGANTAR

Puji syukur kehadiret allah SWT atas limpahan rahmat dan karunia yang diberikan, serta sholawat dan salam pada Rasulullah Muhammad SAW sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi dengan judul “Kualitas Semen Cair Sapi Madura Pada Berbagai Formulasi Pengencer Dasar Air Kelapa Hijau Muda Selama Pendinginan 2-5°C”. Penelitian ini merupakan bagian dari penelitian PUPTN dengan judul teknologi semen cair pada sapi lokal. Skripsi ini disusun sebagai salah satu syarat memperoleh gelar Sarjana Peternakan di Fakultas Peternakan Universitas Brawijaya. Bersama ini penulis menyampaikan rasa terimakasih kepada:

1. Prof. Dr. Ir. Trinil Susilawati, MS., selaku dosen pembimbing utama atas segala saran, motivasi, koreksi dan waktu yang telah diluangkan selama proses bimbingan.
2. Prof. Dr. Ir. Muhammad Nur Ihsan, MS., selaku dosen penguji pertama, Dr. Ir. Imam Thohari, MP selaku dosen penguji kedua dan Prof. Dr. Ir. Siti Chuzaemi, MS selaku dosen penguji ketiga mengucapkan terimakasih atas segala saran, motivasi, koreksi dan waktu yang telah diluangkan selama proses bimbingan.
3. Prof. Dr. Sc. Agr. Ir. Suyadi, MS., selaku Dekan Fakultas Peternakan Universitas Brawijaya yang memberikan fasilitas untuk pelaksanaan penelitian dan membantu kelancaran dalam penelitian.
4. Ibu Dr. Ir. Sri Minarti, MP., selaku Ketua, dan Bapak Dr. Ir. Imam Tohari, MP selaku sekretaris Jurusan Peternakan Fakultas Peternakan Universitas Brawijaya

yang telah banyak membina selama untuk kelancaran studi.

5. Dr. Agus Susilo, S.Pt, MP., selaku Ketua Program Studi Peternakan Fakultas Peternakan Universitas Brawijaya yang telah banyak membina selama untuk kelancaran studi.
6. Ir. Nur Cholis, M.S., selaku Ketua Minat Produksi Ternak Fakultas Peternakan Universitas Brawijaya yang memberikan fasilitas untuk pelaksanaan penelitian dan membantu kelancaran dalam penelitian.
7. Ucapan terimakasih kepada KEMSKRISTEK DIKTI yang memberi dana penelitian melalui skema penelitian PUPTN dengan judul Optimalisasi Semen Cair.
8. Loka Penelitian Sapi Potong Grati Pasuruan yang telah menyediakan materi dan tempat penelitian.
9. Kedua orang tua Bapak Dadang Hermawan dan Ibu Suryamah, kakak dan adik-adik yang tercinta atas perhatian, doa dan dukungannya.
10. Anggota tim penelitian (Janis Wicahyo, Willi Saputra, Muhammad Amran Arfan dan Muhammad Dedi) yang telah bekerjasama dalam menyelesaikan penelitian.
11. Ucapan terimakasih kepada tim penelitian BBIB SINGOSARI (Agus Dwi Cahyorini, Singgih Priyanto, Mayova dan Nisa'us Sholikah) yang telah bekerjasama dalam menyelesaikan penelitian.

Penulis berharap kritik dan saran untuk kesempurnaan penulisan skripsi ini dan semoga hasil penelitian dapat bermanfaat bagi semua pihak terkait peternakan.

Malang, Agustus 2018

Penulis

DAFTAR ISI

Isi	Halaman
RIWAYAT HIDUP	i
KATA PENGANTAR	iii
ABSTRACT	v
RINGKASAN	vii
DAFTAR ISI	xi
DAFTAR TABEL	xiii
DAFTAR GAMBAR	xv
DAFTAR LAMPIRAN	xvii
DAFTAR SINGKATAN	xix
 BAB I PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Tujuan Penelitian	3
1.4 Manfaat Penelitian	3
1.5 Kerangka Konsep Penelitian	4
 BAB II TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Reproduksi Sapi Madura	9
2.2 Pengenceran Semen	10
2.3 Pengenceran	10
 BAB III MATERI DAN METODE PENELITIAN	
3.1 Lokasi dan Waktu Penelitian	13
3.2 Materi Penelitian	13
3.3 Metode Penelitian	13
3.3.1 Penampungan Semen Sapi Madura	14
3.3.2 Pemisahan Putih Telur	15
3.3.3 Pembuatan Pengencer CEP-3	15
3.3.4 Pembuatan Pengencer Air Kelapa Hijau Muda	17
3.4 Variabel Penelitian	18

3.4.1	Pemeriksaan Makroskopis Semen.....	18
3.4.1	Pemeriksaan Mikroskopis Semen	20
3.5	Rancangan Penelitian dan Analisis Data	23
3.6	Batasan Istilah	23
3.7	Kerangka Operasional	25
 BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN		
4.1.	Pemeriksaan Kualitas Semen Sapi Madura	27
4.2.	Persentase Motilitas Spermatozoa selama Penyimpanan Suhu 2-5°C	29
4.3.	Persentase Viabilitas Spermatozoa selama Penyimpanan Suhu 2-5°C	34
4.4.	Persentase Abnormalitas Spermatozoa selama Penyimpanan Suhu 2-5°C	38
4.5.	Total Spermatozoa Motil Sapi Madura	42
 BAB V KESIMPULAN DAN SARAN		
5.1.	Kesimpulan.....	45
5.2.	Saran	45
 DAFTAR PUSTAKA		47
 LAMPIRAN		53

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Perlakuan Penelitian.....	14
2. Komposisi Bahan Pengencer CEP-3.....	16
3. Komposisi Bahan Pengencer Air Kelapa	17
4. Rataan Kualitas Semen Sapi Madura.....	27
5. Rataan Persentase Motilitas Spermatozoa Sapi Madura Pada Berbagai Perlakuan Selama Pendinginan	31
6. Rata-rata Persentase Viabilitas Spermatozoa Sapi Madura Pada Berbagai Perlakuan Selama Pendinginan..	37
7. Rata-rata Persentase Abnormalitas Spermatozoa Sapi Madura Pada Berbagai Perlakuan Selama Pendinginan .	41
8. Rata-rata Persentase Total Spermatozoa Motil Sapi Madura Pada Berbagai Perlakuan Selama Pendinginan..	42

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Kerangka Konsep Penelitian.....	7
2. Kerangka Oprasional Penelitian.....	25
3. Persentase Motilitas Spermatozoa Selama Penyimpanan Pada Berbagai Perlakuan.....	30
4. Perbedaan Spermatozoa Hidup Dan Mati (A) Spermatozoa Hidup Berwarna Transparan dan (B) Spermatozoa Mati Berwarna Pink Selama Penyimpanan Pada Berbagai Perlakuan	35
5. Persentase Viabilitas Spermatozoa Selama Penyimpanan Pada Berbagai Perlakuan.	36
6. Perbedaan Persentase Abnormal dan Normal (A) Spermatozoa Abnormal dan (B) Spermatozoa Normal Selama Penyimpanan Pada Berbagai Perlakuan.	39
7. Pola Peningkatan Persentase Abnormalitas Spermatozoa Sapi Madura Selama Penyimpanan Pada Berbagai Perlakuan.	40
8. Proses Pembuatan Pengencer CEP-3 (P1) Dngan Kuning Telur	56
9. Prosedur Persiapan Pengencer Perlakuan 2	57
10. Prosedur Persiapan Pengencer Perlakuan 3	58
11. Prosedur Persiapan Pengencer Perlakuan 4	59

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Uji Makroskopis dan Uji Mikroskopis Semen.....	53
2. Estimasi Kebutuhan Pengencer.....	54
3. Prosedur Persiapan Pengencer	56
4. Data Persentase Motilitas Spermatozoa (%) Sapi Madura	60
5. Data Persentase Viabilitas Spermatozoa (%) Sapi Madura	63
6. Data Persentase Abnormalitas Spermatozoa (%) Sapi Madura	66
7. Data Persentase Total Spermatozoa Motilitas (jt/ml) Sapi Madura.....	69
8. Analisis Statistik Motilitas Individu dengan <i>Person's</i> <i>Chi Square</i>	72
9. Analisis Statistik Total Spermatozoa Motil dengan <i>Person's Chi Square</i>	76

DAFTAR SINGKATAN

BSA	= <i>Bovine Serum Albumin</i>
C	= Celcius
CEP	= <i>Cauda Epididimis Plasma</i>
Dkk	= dan kawan-kawan
g	= gram
<i>et al</i>	= <i>et alii</i> (dan kawan-kawan)
IB	= Inseminasi Buatan
KT	= Kuning Telur
ml	= mili liter
Mmol	= milimol
pH	= <i>potential Hydrogen</i>
rpm	= <i>rate per minute</i>
SNI	= Standar Nasional Indonesia

KUALITAS SEMEN CAIR SAPI MADURA PADA BERBAGAI FORMULASI PENGECER DASAR AIR KELAPA HIJAU MUDA SELAMA PENDINGINAN 2-5 °C

Jois Harsa¹⁾ dan Trinil Susilawati²⁾

¹⁾ Mahasiswa Fakultas Peternakan Universitas Brawijaya

²⁾ Dosen Fakultas Peternakan Universitas Brawijaya

Email : joisharsa08@gmail.com

RINGKASAN

I Inseminasi Buatan (IB) merupakan salah satu cara untuk meningkatkan mutu genetik dan populasi sapi Madura salah satunya dipengaruhi oleh kualitas semen dan bahan pengencer yang digunakan. Penggunaan semen beku untuk IB memiliki beberapa kekurangan yaitu harga N₂ yang mahal, tidak terjangkau di daerah terpencil dan memiliki *post thawing motility* yang rendah akibat dari kerusakan membran spermatozoa. Bahan pengencer semen cair yang biasa digunakan yaitu *Cauda Epididymis Plasma* (CEP) merupakan bahan kimia impor yang cukup mahal dan masih sulit didapatkan. Alternatif bahan pengencer yang murah yaitu menggunakan bahan pengencer air kelapa hijau muda. Berdasarkan hal tersebut, maka perlu dilakukan penelitian tentang bahan pengencer menggunakan air kelapa hijau muda terhadap kualitas semen cair sapi Madura selama simpan dingin 2-5°C.

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui lama simpan penggunaan bahan pengencer air kelapa hijau muda

terhadap kualitas motilitas spermatozoa semen cair sapi Madura pada penyimpanan dingin. Penelitian ini diharapkan dapat menjadi sumber informasi dan referensi dalam membuat bahan pengencer alternatif yang murah, mudah didapat dan dapat mempertahankan kualitas spermatozoa selama simpan dingin.

Penelitian ini dilaksanakan pada tanggal 15 April 2018 sampai tanggal 5 Mei 2018 di Laboratorium Loka Penelitian Sapi Potong Grati Pasuruan. Materi penelitian yang digunakan adalah semen dari dua pejantan sapi Madura dengan kode sapi M2013/159 dan M2015/11 yang berumur 3-5 tahun serta pejantan ditampung setiap seminggu dua kali menggunakan metode vagina buatan. Semen yang digunakan untuk pengenceran harus mempunyai motilitas $\geq 70\%$ dan motilitas masa 2+. Kuning telur yang digunakan berasal dari ayam ras petelur (*layer*) dengan umur telur < 3 hari. Bahan tambahan pengencer untuk menggantikan BSA yaitu albumin yang diambil dari telur segar bagian *thin* putih telur yaitu putih telur yang encer dan bahan pengencer air kelapa menggunakan air kelapa hijau muda yang berumur 5-8 bulan terdapat air kelapa dan daging kelapa (*karnel*) yang belum keras.

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode eksperimen laboratorium yang terdiri dari 4 perlakuan dan 10 ulangan. Perlakuan penelitian yaitu P1 (80% CEP-3 + 20% kuning telur) sebagai kontrol, P2 (80% air kelapa hijau muda + 20% kuning telur), P3 (P2 + 0,4% putih telur + 1% fruktosa) dan P4 (P2 + 0,4% putih telur 2% fruktosa). Variabel yang diamati adalah motilitas individu (%), viabilitas (%), abnormalitas (%), konsentrasi (jt/ml) dan total spermatozoa motil (jt/ml). Data yang diperoleh dianalisis menggunakan uji *Pearson's Chi Square* dan Uji deskriptif. Uji motilitas individu dan total spermatozoa motil menggunakan uji *Pearson's Chi*

Square pada hari terdekat dengan motilitas 40% dengan nilai harapan nilai motilitas 40% dan total spermatozoa motil 40 jt/ml.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa dengan uji *Pearson's Chi Square*, persentase motilitas individu spermatozoa dengan nilai harapan 40%, pada perlakuan kontrol P1 sampai penyimpanan hari ke-8, P3 dan P4 penyimpanan hari ke-6 selama penyimpanan dingin tidak menunjukkan perbedaan nyata ($P>0,05$) sedangkan pada P2 penyimpanan hari ke-6 menunjukkan perbedaan yang sangat nyata ($P<0,01$). Rata-rata motilitas individu spermatozoa selama penyimpanan dingin menunjukkan bahwa pada perlakuan P1 memiliki nilai tertinggi dan lama simpan paling lama yaitu dapat disimpan sampai hari ke-8 dibandingkan pengenceran air kelapa yaitu pada perlakuan P2, P3 dan P4 mampu bertahan sampai 6 hari selama simpan dingin. Nilai viabilitas didapatkan nilai tertinggi pada perlakuan P1 sebesar $89,58\pm 2,16\%$ kemudian diikuti oleh perlakuan P4 sebesar $89,39\pm 3,79\%$ dan P2 sebesar $88,62\pm 4,59\%$ serta P3 sebesar $87,93\pm 4,41\%$. Nilai abnormalitas dari semua perlakuan menunjukkan nilai yang fluktuatif akan tetapi masih $<20\%$. Uji *Pearson's Chi Square* total spermatozoa motil dengan nilai harapan 40 jt/ml dapat digunakan untuk IB yaitu pada perlakuan P1 dapat digunakan sampai lama simpan 8 hari, sedangkan pada perlakuan air kelapa hijau muda yaitu perlakuan P2, P3 dan P4 dapat disimpan serta digunakan selama 6 hari simpan dingin 2-5°C.

QUALITY OF LIQUID SEMEN MADURA BULLS ON VARIOUS FORMULATION OF DILUENTS BESIC GREEN COCONUT WATER DURING COOLING 2-5 °C

Jois Harsa¹⁾ and Trinil Susilawati²⁾

1) Student of Animal Science Brawijaya University

2) Lecturer of Animal Science Brawijaya University

ABSTRACT

The purpose of this research was to investigate the quality on various coconut water base diluents on liquid semen of madura bull during cold storage of 2-5°C. This research was conducted on March 15th, 2018 until May 5th, 2018 at Laboratory of Reproduction of Grati Beef Cattle Research Station, Pasuruan. The material in this research is semen of two bulls of Madura cattle aged 3-5 years who accommodated in twice a week using artificial vaginal method. The method is using laboratory experimental with 4 treatments and 10 replications. The research treatments were P1 (80% CEP-3 + 0.4% white egg + 20% yellow egg) as control, P2 (80% young green coconut water + 20% yellow egg), P3 (P2 + 1% fructose + 0.4% white egg) and P4 (P2 + 0.4% white egg + 2% fructose). The result of Pearson's Chi Square test showed in P1 of 8th day storage, P3 and P4 of 6th day storage during cold storage had no significant effect ($P > 0.05$) whereas on P2 6th day storage had a high significant ($P < 0.01$). Average sperm motility of individual spermatozoa during cold storage showed in treatment P1 had the highest value and longest shelf life compared to coconut

water dilution. Value of viability got the highest value at treatment P1: $89.58 \pm 2.16\%$ then followed by P4: $89.39 \pm 3.79\%$ and P2: $88.62 \pm 4.59\%$ and P3: $87.93 \pm 4.41\%$. The value of abnormality of all treatments shows a fluktuative value but $<20\%$. Pearson's Chi Square test of total motile spermatozoa with expectation value 40 jt/ml can be used for artificial insemination (AI) in treatment P1 until day 8th, treatment P2, P3 and P4 until day 6th.

Keywords : CEP-3, Liquid Semen, Madura Bull, Young Green Coconut Water.

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Sapi Madura merupakan salah satu plasma nutfah asli Indonesia yang memiliki produktivitas cukup baik. Peningkatan produktivitas sapi Madura dapat dipercepat dengan penerapan teknologi reproduksi. Teknologi reproduksi saat ini adalah inseminasi buatan (IB). IB merupakan salah satu teknologi penyimpanan semen beku menggunakan nitrogen cair yang dapat diterapkan dipeternak yang keterbatasan pejantan unggul dan dapat dimanfaatkan secara maksimal (Rizal, 2009). Permasalahan semen beku yaitu harga nitrogen cair yang mahal dan pembentukan kristal es saat proses pembekuan yang menyebabkan *cold shock*, sehingga merusak protein dan akrosom spermatozoa (Susilawati, 2013). Keberhasilan IB menggunakan semen beku lebih rendah dibandingkan dengan semen cair, hal ini terjadi karena semen beku mengalami penurunan fertilitas selama proses pembekuan dan proses *thawing* yang dilakukan kurang tepat (Susilawati dkk, 2016^a; Salim dkk, 2012). Semen cair merupakan alternatif yang dapat digunakan untuk meminimalisir kerusakan pada proses penyimpanan semen, tidak memerlukan nitrogen cair, bahan murah, meningkatkan keberhasilan IB serta dapat disimpan pada suhu dingin. Menurut Hoesni (2016) menyatakan bahwa dalam usaha mempertahankan kualitas spermatozoa, media pengenceran harus dapat menyediakan zat-zat makanan, tidak bersifat racun dan sebagai penyangga (*buffer*), mencegah perubahan pH akibat pembentukan asam laktat dari hasil metabolisme spermatozoa, mempertahankan tekanan osmotik dan keseimbangan elektrolit.

Penyimpanan semen membutuhkan bahan pengencer yang dapat melindungi spermatozoa dari suhu dingin (*sold shock*), memberikan sumber energi selama proses penyimpanan dingin dan bahan pengencer tidak bersifat racun bagi spermatozoa selama penyimpanan (Kurniawan dkk, 2013). Penggunaan pengencer untuk mengurangi kepadatan spermatozoa serta menjaga kelangsungan hidup spermatozoa sampai batas waktu tertentu pada kondisi penyimpanan diatas atau dibawah titik beku. Bahan pengencer yang masih dalam pengembangan yaitu *Cauda Epididymal Plasma 3* (CEP-3) merupakan pengembangan dari pengencer CEP-2 yaitu menggantikan *Bovine Serum Albumin* (BSA) dengan putih telur. Pengencer CEP-2 memiliki komposisi kimia seperti NaCl, KCl, $\text{CaCl}_2(\text{H}_2\text{O})_2$, $\text{MgCl}_2(\text{H}_2\text{O})_2$, NaHCO_3 , NaH_2PO_4 , KH_2PO_4 , fruktosa, sorbitol, *bovine serum albumin* (BSA), Tris, gentamisin, penisilin, streptomisin dan asam sitrat (Ducha dkk, 2013 dan Verberckmoes *et al*, 2004). Costa *et al* (2016) melaporkan bahwa semen cair sapi Peranakan Ongole pada penyimpanan dingin dengan pengenceran CEP-2 + 10% kuning telur mampu mempertahankan motilitas spermatozoa sampai hari ke-8 dan CEP-2+ 10% tanpa BSA mampu mempertahankan motilitas spermatozoa sampai hari ke-6 dengan motilitas sebesar 43.50%. Air kelapa merupakan bahan pengencer alternatif yang mudah didapatkan karena banyak tersedia dilingkungan sekitar, harga terjangkau dan dapat mempertahankan motilitas sampai hari ke-3 yaitu dengan motilitas sebesar $40,42 \pm 1,88\%$ (Yohana dkk, 2014). Air kelapa mengandung unsur karbon berupa karbohidrat sederhana seperti glukosa, sukrosa, dan fruktosa. Kuning telur digunakan sebagai krioprotektan dan berfungsi sebagai penyedia makan, sumber energi serta pelindung eskraseluler spermatozoa dari

cold shock, karena didalam kuning telur mengandung lipoprotein dan lesitin untuk melindungi spermatozoa (Dwitarizki dkk, 2015). Pengenceran semen cair menggunakan air kelapa hijau muda pada kambing dapat mempertahankan motilitas spermatozoa selama dua hari dengan motilitas $48,33 \pm 20,17\%$ (Audia dkk, 2017). Bahan pengenceran CEP-3 dengan substansi BSA dengan putih telur dapat mempertahankan motilitas spermatozoa sampai hari ke-6 sebesar $41,0 \pm 8,8\%$ (Solikah, 2016). Berdasarkan uraian diatas, perlu adanya penelitian lebih lanjut mengenai kualitas semen cair pada sapi Madura dengan berbagai formulasi bahan pengencer dasar air kelapa hijau muda selama pendinginan 2-5°C.

1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah dalam penelitian ini adalah bagaimana pengaruh pengencer CEP-3 + 20% kuning telur dan berbagai formulasi pengenceran dasar air kelapa hijau muda terhadap kualitas semen cair sapi Madura selama simpan dingin 2-5°C.

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian adalah untuk mengetahui kualitas berbagai formulasi pengencer dasar air kelapa dibandingkan CEP-3 sebagai kontrol pada semen cair sapi Madura selama simpan dingin 2-5°C.

1.4 Manfaat Penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan menjadi bahan pengencer lokal untuk mengurangi kerusakan spermatozoa dengan berbagai bahan pengenceran selama simpan 2-5°C dan meminimalkan biaya pembuatan bahan pengencer semen cair.

1.5 Kerangka Konsep Penelitian

Sapi Madura merupakan salah satu sapi lokal Indonesia yang memiliki produktivitas cukup baik yang dapat hidup di daerah tropis. Peningkatan mutu genetik sapi Madura dilakukan dengan berbagai cara, salah satunya dengan penerapan IB. Inseminasi Buatan (IB) digunakan untuk membantu mempercepat penyebaran bibit unggul dan menghindari penyebaran penyakit. Inseminasi Buatan (IB) mempunyai keunggulan yaitu untuk meningkatkan produksi ternak secara cepat, meningkatkan mutu genetik ternak, menghindari penularan penyakit dan semen dapat disimpan dalam waktu lama meskipun pejantan sudah mati. Kelemahan dari IB menggunakan semen beku yaitu mempunyai fertilitas yang rendah akibat kerusakan membran spermatozoa saat pembekuan.

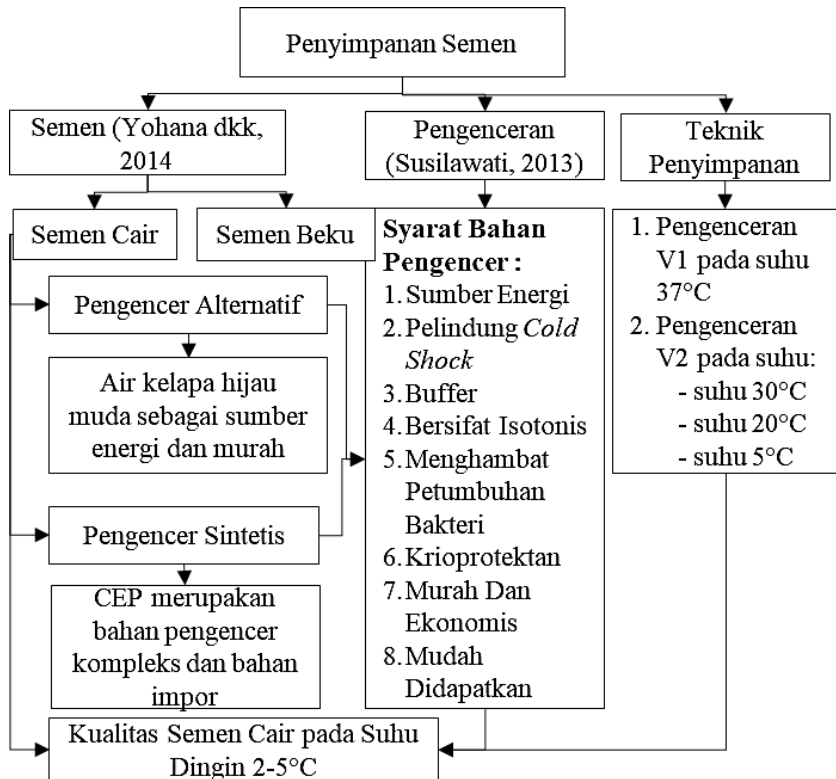
Pengencer *Cauda Epididymal Plasma* 3 (CEP-3) merupakan pengembangan dari pengencer CEP-2 yaitu menggantikan BSA dengan putih telur dan pengencer CEP mempunyai keunggulan yaitu mengandung komposisi ion dan osmolaritas yang menyerupai komposisi ion cairan plasma di epididimis sehingga dapat mendukung kualitas spermatozoa, motilitas dan integritas membran spermatozoa (Ducha dkk, 2012). Costa *et al* (2016) melaporkan bahwa semen cair sapi Peranakan Ongole selama penyimpanan dingin menggunakan bahan pengencer CEP-2 + 10% kuning telur mampu mempertahankan motilitas spermatozoa sampai hari ke-8 dan CEP-2+ 10% tanpa BSA mampu mempertahankan motilitas spermatozoa sampai hari ke-6 dengan motilitas spermatozoa sebesar 43.50%. Air kelapa merupakan bahan pengencer yang harga murah dan dapat mempertahankan spermatozoa sampai 3

hari penyimpanan dengan motilitas sebesar $40,42 \pm 1,88\%$ (Yohana dkk, 2014). Penggantian BSA menggunakan putih telur pada sapi Peranakan Onggole dapat mempertahankan motilitas spermatozoa sampai 6 hari selama penyimpanan dingin dengan motilitas sebesar $41,0 \pm 8,8\%$ (Sholikhah dkk, 2016). Menurut Susilawati dkk (2016^a) menyatakan bahwa keberhasilan IB pada sapi PO yaitu nilai S/C menggunakan semen beku memperoleh nilai lebih tinggi apabila dibandingkan semen cair dengan lama simpan 5 hari dengan motilitas spermatozoa sebesar 53,75%, hal ini terjadi karena semen beku mengalami penurunan fertilitas selama proses pembekuan dan proses *thawing* semen beku yang dilakukan inseminator kurang tepat.

Air kelapa merupakan bahan pengencer lokal yang mudah didapatkan tersedia dilingkungan. Air kelapa juga mengandung unsur karbon berupa karbohidrat sederhana seperti glukosa, sukrosa, dan fruktosa (Dwitarizki dkk, 2015). Menurut Hayati (2009) menyebutkan bahwa kandungan karbohidrat air kelapa muda lebih besar dibandingkan air kelapa tua, yaitu sebesar 6,3% sedangkan air kelapa tua sebesar 6,2%. Kandungan air kelapa menurut Kurniawan dkk (2013) menyatakan bahwa karbohidrat yang berupa glukosa dan fruktosa dapat dijadikan sumber energi bagi spermatozoa dan diharapkan mampu mempertahankan spermatozoa. Bahan pengenceran semen cair menggunakan air kelapa hijau muda pada kambing mampu mempertahankan motilitas spermatozoa selama dua hari dengan motilitas $48,33 \pm 20,17\%$ (Audia dkk, 2017). Bahan pengencer air kelapa hijau muda lebih baik dibandingkan air kelapa merah muda dengan motilitas $45 \pm 31,62\%$ pada penyimpanan hari ke-2 (Mugiyati dkk, 2017).

Kuning telur merupakan bahan sumber energi berfungsi sebagai krioprotektan ekstraseluler dengan harga terjangkau. Susilawati (2013) menyatakan bahwa kuning telur mengandung lipoprotein dan lesitin untuk mempertahankan dan melindungi integritas selubung spermatozoa serta glukosa yang lebih baik digunakan untuk metabolisme spermatozoa. Ducha dkk (2013) menyatakan bahwa pengencer CEP-2 dengan kuning telur 20% mampu mempertahankan persentase motilitas spermatozoa pada sapi Limousin sampai hari ke-8 dengan motilitas $87,46 \pm 5,40\%$ selama penyimpanan 4-5°C.

Fruktosa adalah gula sederhana berfungsi sebagai sumber energi, mampu mempertahankan tekanan osmotik dalam pengencer dan fruktosa sebagai krioprotektan *shock* dan sebagai penyangga *buffer* (Atmaja *et al*, 2014). Penambahan gula sangat efektif dalam melindungi spermatozoa dari kerusakan kriopreservasi. Gula dimetabolisme melalui glukolisis, trisakarida kemudian menghasilkan energi *adenosine triphosphate* (ATP) yang hasilnya akan digunakan spermatozoa untuk bergerak (Herdis dkk, 2016). Kerangka konsep penelitian dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Kerangka Konsep Penelitian

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Reproduksi Sapi Madura

Sapi Madura merupakan plasma nutfah lokal asli Indonesia dan harus dipertahankan kemurniannya agar tidak punah. Silsilah Sapi Madura diduga adalah hasil persilangan antara sapi bali (*Bos sondaicus*) dengan sapi zebu (*Bos indicus*). Sapi Madura merupakan *breed* (bangsa) sapi potong lokal yang terbentuk sebagai akibat isolasi alam dan pengaruh lingkungan, sehingga mempunyai keseragaman karakteristik yang menonjol diantara *breed* sapi potong lokal lainnya (Susilawati, 2017^a). Kontribusi sifat-sifat genetik sapi zebu seperti toleran terhadap stress akibat iklim, daya tahan terhadap serangan caplak dan sapi Madura menjadi bangsa sapi yang mempunyai kemampuan adaptasi yang baik terhadap lingkungan. Keunggulan sapi Madura yaitu mempunyai respon yang baik terhadap pakan dengan kandungan serat kasar tinggi (Kutsiyah, 2012). Semen sapi Madura mempunyai daya hidup lebih baik dari sapi bangsa lain. Perbedaan umur ternak dapat mempengaruhi kualitas semen yang dihasilkan. Kualitas semen yang rendah yaitu pada ternak muda dikarenakan ternak tersebut masih mengalami perkembangan pada organ reproduksi, setelah ternak sudah dewasa tubuh, maka kualitas semen yang dihasilkan akan lebih baik, karena organ reproduksi kelamin primer dan sekunder ternak jantan sudah optimal (Azzahra, 2016). Persentase motilitas semen yang digunakan untuk semen beku yaitu 70% (Ratnawati dkk, 2017) dan konsentrasi spermatozoa diatas 1000 jt/ml menunjukkan semen telah memenuhi standar semen sapi jantan (200-1800 juta/ml).

2.2 Pengenceran Semen

Pengenceran semen merupakan proses penambahan bahan-bahan yang dilakukan untuk menentukan kualitas dan daya hidup spermatozoa. Bahan pengencer harus mengandung sumber nutrisi, *buffer*, anti *cold shock*, antibiotik dan krioprotektan yang dapat melindungi spermatozoa dalam proses pendinginan dan pembekuan. Sumber nutrisi yang paling banyak digunakan adalah karbohidrat, terutama fruktosa yang paling mudah dimetabolisasi oleh spermatozoa. Semen yang sering digunakan untuk IB yaitu menggunakan semen beku, tetapi memiliki kualitas yang lebih rendah dan dapat dipertahankan apabila tersedia Nitrogen cair (N_2 cair) secara kontinyu, sedangkan di beberapa daerah di Indonesia N_2 cair sulit untuk didapatkan dan berdampak pada rendahnya keberhasilan IB (Wiratri dkk, 2015). Bahan pengencer alternatif yaitu menggunakan air kelapa hijau muda diharapkan mampu mempertahankan kualitas semen cair pada penyimpanan dingin $2-5^{\circ}C$.

2.3 Pengenceran

Pengencer *Cauda Epididymal Plasma 3* (CEP-3) merupakan bahan pengencer yang mempunyai komposisi ionik yang hampir sama dengan cairan kauda epididimis sapi dengan komposisi ion, pH, osmolaritas meniru kondisi plasma kauda epididimis sapi. Penggantian BSA menggunakan putih telur pada sapi ongole dapat bertahan 6 hari dengan motilitas 41% (Sholikah dkk, 2016). Bahan pengenceran CEP-2 tanpa BSA pada sapi Peranakan Ongole mampu mempertahankan motilitas spermatozoa sampai hari ke-6 dengan motilitas 43,50% (Costa *et al.*, 2016). Bahan pengencer harus mampu melindungi spermatozoa dari *cold shock* dan kerusakan

membrane spermatozoa, maka perlu ditambahkan bahan lain seperti kuning telur yang mengandung lipoprotein dan lisitin sehingga diharapkan mampu menjaga kerusakan spermatozoa selama penyimpanan (Yohana dkk, 2014). Ducha dkk (2013), menyatakan bahwa pada pengenceran CEP-2 dengan penambahan 20% kuning telur dapat mempertahankan motilitas lebih baik yaitu sampai hari ke-8 dibandingkan dengan CEP-2 tanpa penambahan kuning telur selama penyimpanan 4-5°C.

Air kelapa merupakan bahan pengencer lokal yang mudah didapatkan karena banyak tersedia dilingkungan sekitar dan harganya terjangkau. Air kelapa juga mengandung unsur karbon berupa karbohidrat sederhana seperti glukosa, sukrosa, dan fruktosa (Dwitarizki dkk, 2015). Kandungan air kelapa muda yaitu air 94,180 g/100g, protein 0,120 g/100g, lipid 0,073 g/100g, pH 4,7 dan mengandung beberapa ion yaitu Fe 0,02 mg/100g, P 4,66 mg/100g, Na 1,75 mg/100g, Zn 0,07 mg/100g, Ca 27,35 mg/100g, Cu 0,01 mg/100g, Mn 0,12 mg/100g serta didalam air kelapa mengandung asam amino yaitu alanin, lisin, arginin, metionin, aspartat fenilalanin, glutamat, prolin, glisin, serin, histidin, treonin, isoleusin, valin dan leusin (Yong *et al*, 2009). Hayati (2009) menyebutkan bahwa kandungan karbohidrat air kelapa muda lebih besar dibandingkan air kelapa tua, yaitu sebesar 6,3% sedangkan air kelapa tua sebesar 6,2%. Kurniawan dkk (2013) menjelaskan bahwa karbohidrat yang berupa glukosa dan fruktosa dapat dijadikan sumber energi bagi spermatozoa dan diharapkan mampu mempertahankan kehidupan spermatozoa. Metabolisme spermatozoa berlangsung secara *aerob* maupun *anaerob*. Metabolisme spermatozoa apabila dalam keadaan *aerob* maka metabolisme fruktosa 9 kali lebih efisien dalam menghasilkan energi sedangkan metabolisme spermatozoa dalam keadaan *anaerob*

menghasilkan asam laktat yang mengakibatkan racun sehingga mengakibatkan kematian pada spermatozoa (Kurniawan dkk, 2013). Menurut Audia dkk (2017) menyatakan bahwa pada pengenceran air kelapa hijau muda pada semen kambing mampu mempertahankan motilitas spermatozoa sampai dua hari dengan motilitas $48,33 \pm 20,17\%$. Pengenceran air kelapa hijau muda lebih baik mempertahankan motilitas spermatozoa dibandingkan dengan pengenceran air kelapa merah muda pada kambing yaitu mampu mempertahankan motilitas spermatozoa sampai dua hari dengan motilitas $45 \pm 31,62\%$ (Mugiyati dkk, 2017).

Kuning telur merupakan bahan sumber energi dan berfungsi sebagai krioprotektan ekstraseluler dengan harga terjangkau. Susilawati (2013) menyatakan bahwa kuning telur mengandung lipoprotein dan lesitin untuk mempertahankan serta melindungi integritas selubung spermatozoa, serta glukosa lebih baik digunakan untuk metabolisme spermatozoa. Kuning telur pada pengenceran semen cair dapat menjadi bahan alternatif untuk mempertahankan kualitas spermatozoa pada suhu $2-5^{\circ}\text{C}$. Ducha dkk (2013) menyatakan bahwa pengencer CEP-2 dengan kuning telur 20% mampu mempertahankan persentase motilitas spermatozoa sapi Limousin sampai hari ke-8 dengan motilitas sebesar $87,46 \pm 5,40\%$ selama penyimpanan $4-5^{\circ}\text{C}$.

BAB III

MATERI DAN METODE PENELITIAN

3.1 Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada tanggal 15 April 2018 sampai 05 Mei 2018. Pemeriksaan semen cair yang meliputi pengamatan makrokopis dan mikroskopis di Loka Penelitian Sapi Potong Grati Pasuruan.

3.2 Materi Penelitian

Materi penelitian yaitu semen dari dua ekor sapi Madura dengan kode sapi M2013/159 dan M2015/11 yang ada di Loka Penelitian Sapi Potong Grati Pasuruan berumur 5 dan 3 tahun, penampungan semen sapi Madura dilakukan setiap seminggu dua kali menggunakan metode vagina buatan. Kuning telur yang digunakan adalah kuning telur segar berasal dari ayam ras petelur berumur <3 hari. Bahan pengencer untuk menggantikan BSA yaitu menggunakan putih telur yang diambil bagian *thin* albumin atau putih telur yang encer (Solikah dkk, 2016 dan Susilawati dkk 2016^b). Kelapa yang digunakan dalam penelitian ini yaitu air kelapa hijau muda, air kelapa berumur 5-8 bulan yaitu kelapa telah terdapat *karnel* (daging kelapa) yang belum keras dan air kelapa (Farapati dkk, 2014) didapatkan dari pedagang kelapa yang ada di Loka Sapi Potong Grati Pasuruan. Bahan tambahan lain seperti fruktosa, penisilin, Na₂HCO₃ dan streptomisin didapatkan dari lab Reproduksi Fakultas Peternakan Universitas Brawijaya.

3.3 Metode Penelitian

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah menggunakan metode eksperimental laboratorium. Persyaratan semen yaitu semen mempunyai motilitas individu $\geq 70\%$,

motilitas massa 2+ dan abnormalitas <20% (Susilawati, 2013) dan (Ax *et al*, 2008). Penelitian ini dilakukan dengan 4 perlakuan dan 10 ulangan. Perlakuan penelitian ini ditampilkan pada Tabel 1.

Tabel 1. Perlakuan Penelitian

No	Perlakuan	Komposisi Bahan Pengencer
1.	P1	CEP-3 + 20% Kuning Telur
2.	P2	Air Kelapa Muda Hijau + 20% Kuning Telur (KT)
3.	P3	P2 + 0.4% Putih Telur + 1% Fruktosa
4.	P4	P2 + 0.4% Putih Telur + 2% Fruktosa

Pengamatan dilakukan setiap hari yaitu hari ke-(1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, dan 8) dari 4 perlakuan, variabel yang diamati yaitu motilitas (%), viabilitas (%), abnormalitas (%) dan konsentrasi (jt/ml).

3.3.1 Penampungan Semen Sapi Madura

Penampungan semen sapi Madura yaitu dengan memasukkan ternak pemancing dikandang jepit, oprator penampung berada disebelah kanan memegang vagina buatan, tangan kiri memegang preputim sapi dengan kemiringan 45° dan suhu vagina buata yaitu 37-39°C serta ujung karet terdapat tabung reaksi untuk menampung semen yang telah ditutup bahan gelap agar semen yang dihasilkan tidak terkena sinar matahari langsung. Pejantan yang akan ditampung didekatkan dengan ternak pemancing dan dilakukan *false mounting* sebanyak 3-5 kali bertujuan untuk meningkatkan libido pejantan (Susilawati, 2013). Suhu merupakan faktor penting dalam melakukan penampungan, apabila suhu panas akan menyebabkan turunnya libido dan kualitas semen yang dihasilkan akan jelek (Susilawati, 2017^b). Penampungan yang

dilakukan selama penelitian yaitu dilakukan pagi hari dari jam 05:30 sampai jam 08:00 WIB. Selain faktor suhu, yang mempengaruhi kualitas semen adalah umur. Umur sapi yang baik untuk ditampung yaitu umur 12-14 bulan dan apabila umur sapi lebih dari 7 tahun akan mengalami penurunan kualitas (Susilawati, 2017^a; Susilawati, 2017^b).

3.3.2 Pemisahan Putih Telur

- Alat : Spuit dan cawan petri.
- Bahan : Telur ayam ras
- Prosedur Pembuatan :
 1. Dipisahkan antara kuning telur dan putih telur menggunakan cawan petri
 2. Diambil putih telur, dipisahkan antara *thin albumin* dengan *thick albumin*
 3. Diambil *thin* putih telur yaitu bagian putih telur yang encer menggunakan spuit (Solikhah dkk, 2016; Susilawati dkk, 2016^b).
 4. Disimpan dalam refrigerator

3.3.3 Pembuatan Pengencer CEP-3

- Alat : Timbangan analitik, *magnetic stirrer*, mikropipet 1000 µl, *disposable syringe* ukuran 5 ml dan 10 ml, erlenmeyer ukuran 250 ml, 100 ml, 50 ml, 1000 ml, *aluminium foil*, pH meter.
- Bahan : Komposisi bahan pengencer CEP-3 disajikan pada Tabel 2.

Tabel 2. Komposisi Bahan Pengencer CEP-3.

Bahan	Jumlah
Fruktosa (mmol/l)	55,0
Sorbitol (mmol/l)	1,0
Asam Sitrat (mmol/l)	42,6
NaCl (mmol/l)	15
KCl (mmol/l)	7,0
CaCl ₂ (H ₂ O) ₂ (mmol/l)	3,9
MgCl ₂ (H ₂ O) ₆ (mmol/l)	3,0
NaHCO ₃ (mmol/l)	11,9
NaH ₂ PO ₄ (mmol/l)	8,0
KH ₂ PO ₄ (mmol/l)	20,0
Tris (mmol/l)	133,7
Gentamicin (g/l)	0,05
pH	6,6
Penisilin (IU)	1000
Streptomisin (g)	1
Putih Telur (ml/l)	4
Osm (mOsm)	250-350

Sumber: Veberckmoes *at al* (2004); Ducha dkk (2013);
Susilawati dkk (2016^b)

- Prosedur pembuatan :

1. Bahan-bahan yang terdapat pada tabel 2 tanpa ditambahkan BSA dimasukan kedalam erlenmeyer kapasitas 1 liter dan ditambahkan *diiozine water* sebanyak 1 liter kemudian diaduk menggunakan

magnetic stirrer sampai merata (Susilawati dkk, 2016^b).

2. pH diatur memiliki pH 6-7 dan osmolaritas 250-350 mOsm (Ducha dkk, 2013).
3. Saring media menggunakan membran milipor dengan ukuran (pore) 0,22 μ m.
4. Putih telur yang encer (*thin*) dihisap menggunakan pipet sebanyak 0,4% atau 4 ml/l. Pengambilan putih telur dilakukan saat akan digunakan (Sholikhah dkk, 2016; Susilawati dkk, 2016^b).
5. Ditambahkan 20% kuning telur dan dilakukan sentrifuge pada 1500 rpm sebanyak dua kali selama 30 menit.
6. Diambil supernatan.
7. Bahan pengencer siap digunakan.

3.3.4 Pembuatan Pengencer Air Kelapa Hijau Muda

- Alat : *Beker glass*, timbangan analitik, *magnetic stirrer*, mikropipet 1000 μ l, gelas ukuran 100 ml, 250 ml, *alumunium foil*, pH meter.
- Bahan: Komposisi bahan air kelapa dengan 10% kuning telur disajikan pada Tabel 3.

Tabel 3. Komposisi Bahan Pengencer Air Kelapa

Bahan	Jumlah	Fungsi
Air kelapa	80 ml	Sumber energi
Kuning Telur	20 ml	Sumber energi dan lipoprotein
Streptomycin	0,1 g	Antibiotik
Penicillin	0,1 g	Antibiotik

Sumber: Yohana dkk (2014).

- Prosedur pembuatan pengencer air kelapa:
 1. Air kelapa hijau muda dilakukan inaktivasi enzim pada suhu 56°C selama 20 menit.
 2. Disaring air kelapa sebanyak 3 kali, penyaringan pertama dengan kertas saring halus untuk memisahkan bahan yang kasar dan 2 kali penyaringan menggunakan kertas *whattman*.
 3. Ditambahkan 0,1g Na_2HCO_3 (*buffer*), 0,1g streptomycin dan 0,1g penicillin, 1% fruktosa (P3) 2% fruktosa (P4), dan kuning telur 20% kedalam air kelapa kemudian dihomogenkan dengan *magnetic stirrer* selama 10-15 menit (Susilawati, 2013; Yohana dkk, 2014).
 4. Dilakukan sentrifuge 1500 rpm pada bahan pengencer air kelapa selama 30 menit sebanyak dua kali dan diambil supernatan.
 5. Supernatan disimpan pada *beaker glass* yang ditutup menggunakan plastic wrap dan disimpan di *refrigerator*.
 6. Bahan pengencer air kelapa siap digunakan.

3.4 Variabel Penelitian

Variabel dalam penelitian ini adalah kualitas semen cair dengan parameter sebagai berikut:

3.4.1 Pemeriksaan Makroskopis Semen

a. Volume

Volume semen sapi bervariasi setiap penampungan. Volume semen dapat dilihat secara langsung pada tabung penampung berskala dan volume

semen pada sapi bervariasi yaitu 5 atau 5-8 ml per ejakulasi (Susilawati, 2013; Hopkins *et al*, 2003. Garner *et al*, 2008).

b. pH

Penilaian pH diamati dengan cara mengambil semen dengan ose dan diletakkan pada kertas lakmus, kemudian dilihat perubahan warna pada kertas pH meter dan dicocokkan dengan indikator warna yang ditetapkan, pH normal semen sapi yaitu 6,4-7,8 (Susilawati, 2013; Garner *et al*, 2008).

c. Warna

Warna semen dapat dilihat pada tabung penampungan, apabila warna semen sapi normal adalah berwarna putih susu hingga putih kekuningan. Warna semen sapi abnormal atau tercamar apabila mengandung air, darah, air kotor, rambut preputium, nanah dan bau tidak normal (Susilawati, 2013).

d. Konsistensi

Konsistensi spermatozoa berkorelasi dengan konsentrasi spermatozoa. Penilaian encer apabila semen sapi konsentrasinya $<1000 \times 10^6$, sedang dengan konsentrasi 1000×10^6 sampai 1500×10^6 , dan konsentrasi pekat $>1500 \times 10^6$ (Susilawati, 2013). Konsistensi dibagi beberapa penilaian krem tebal, krem, krem tipis, putih susu, putih berawan, berair dan apabila konsentrasi sapi muda 2×10^8 sperm/ml dan pada sapi dewasa memiliki konsentrasi $1,8 \times 10^9$ sperma/ml (Susilawati, 2013; Ax *et al*, 2008).

3.4.1 Pemeriksaan Mikroskopis Semen

a. Motilitas Massa

Motilitas massa merupakan pergerakan sekumpulan spermatozoa yang progresif atau bergerak. Pengamatan persentase motilitas massa menggunakan mikroskop cahaya. Prosedur untuk melihat motilitas massa yaitu satu ose semen diletakkan diatas gelas objek tanpa ditutup dengan *cover glass* dan diamati dengan perbesaran 100 kali pada suhu yang dijaga konstan 37°C (Susilawati, 2013). Penilaian motilitas massa adalah sebagai berikut:

- Sangat baik (+++), apabila spermatozoa terlihat adanya gelombang besar, banyak, tebal dan bergerak cepat berpindah-pindah tempat dan aktif seperti gumpalan awan hitam.
- Baik (++), apabila spermatozoa terlihat gelombang kecil, jarang, kurang jelas dan bergerak lamban.
- Kurang baik (+), bila tidak terlihat gelombang melainkan gerakan-gerakan individual aktif progresif.
- Buruk (0), bila terlihat sedikit pergerakan inividu.

b. Motilitas Individu

Penilaian motilitas individu spermatozoa dengan melihat persentase motilitas spermatozoa progresif dalam satu bidang pandang minimal 200 spermatozoa. Pengamatan spermatozoa diamati dengan mengambil satu ose semen lalu ditetaskan pada *object glass* dan ditutup *cover glass* serta diamati menggunakan mikroskop cahaya dengan perbesaran 400 kali dengan suhu konstan 37°C. Motilitas yang baik tidak kurang

dari 65% dan spermatozoa progresif lebih dari 50% (Susilawati, 2011; Ax *et al*, 2008).

c. Konsentrasi

Perhitungan konsentrasi spermatozoa yaitu untuk menghitung jumlah spermatozoa dalam satu milli. Metode yang dapat digunakan untuk menghitung konsentrasi spermatozoa bisa menggunakan metode *hemacytometer*, *colorimeter* atau *spetrophotometer*. Menghitung semen menggunakan *hemacytometer* yaitu semen dihisap menggunakan pipet *eritrocyt* sampai angka 0,5 kemudian ditambah dengan larutan NaCl 3% dihisap sampai skala 1,01. Larutan dalam pipet dihomogenkan dengan cara digoyang selama 2-3 menit dan dihomogenkan dengan membentuk angka 8 selama 2-3 menit kemudian larutan dibuang 2-3 tetes, selanjutnya larutan diteteskan pada kamar hitung *haemocytometer* dan ditutup dengan *cover glass* serta diamati menggunakan mikroskop dengan perbesaran 400 kali, dihitung menggunakan *counting chamber* dan spermatozoa dihitung pada lima kotak sedang. Konsentrasi sapi muda 2×10^8 sperm/ml dan pada sapi dewasa memiliki konsenrasi $1,8 \times 10^9$ sperm/ml (Susilawati, 2013; Verberckmoes *et al*, 2004; Ax *et al*, 2008).

d. Viabilitas

Spermatozoa yang hidup dan mati dapat dibedakan melalui reaksinya terhadap warna. Spermatozoa motil tidak menyerap warna dan spermatozoa tidak motil menyerap warna serta spermatozoa yang berwarna sebagian dianggap mati. Penilaian viabilitas dilakukan dengan cara mengambil satu ose semen diletakkan pada

object glass lalu ditambah satu ose *eosin-negrosin* kemudian dihomogenkan dan dibuat preparat ulas yang tipis dengan sudut 45° kemudian dikeringkan serta diamati dibawah mikroskop dengan perbesaran 400 kali (Susilawati, 2013; Susilawati, 2016^b)

$$\% \text{ Viabilitas Spermatozoa} = \frac{\text{Jumlah Spermatozoa Hidup}}{\text{Jumlah Spermatozoa Hidup} + \text{Mati}} \times 100\%$$

e. Abnormalitas

Pengamatan abnormalitas seperti pada penilaian viabilitas yaitu membuat preparat ulas dan diamati menggunakan mikroskop dengan perbesaran 400 kali pengamatan abnormalitas dilakukan minimal 200 spermatozoa. Terjadinya abnormalitas dibagi menjadi dua yaitu abnormalitas primer dan skunder. Abnormalitas primer adalah abnormal terjadi saat proses spermatogenesis dan abnormalitas skunder terjadi saat prosesing spermatozoa. Terdapat lima kategori spermatozoa abnormal, yaitu tidak ada ekor, abnormal kepala, bentuk ekor abnormal, bentuk ekor abnormal dengan adanya *sitoplasmic droplet* pada bagian *proximal* dan bentuk abnormal ekor pada bagian *distal droplet*. Nilai abnormalitas diatas 20% tidak dapat digunakan untuk IB (Susilawati, 2013; Ax *et al*, 2008).

$$\% \text{ Abnormalitas Spermatozoa} = \frac{\text{Jumlah Spermatozoa Abnormal}}{\text{Jumlah Spermatozoa Normal} + \text{Abnormal}} \times 100\%$$

f. Analisis Total Spermatozoa Motil

Menghitung spermatozoa motil yaitu dengan cara mengalikan volume semen dengan konsentrasi kemudian dikali dengan persentase spermatozoa yang motil. Total spermatozoa motil perlu diketahui, karena peluang terjadinya fertilisasi ditentukan oleh jumlah spermatozoa progresif (Susilawati, 2103).

3.5 Rancangan Penelitian dan Analisis Data

Metode penelitian yang digunakan adalah experimental laboratory. Lama penyimpanan pada hari yang terdekat dengan motilitas 40% dan total spermatozoa yang motil 40 juta/ml di uji menggunakan *Person's Chi Square* dan uji deskriptif pada 4 perlakuan dan 10 kali ulangan.

$$X^2 = \frac{\sum_{i=1}^k (F0 - Fh)^2}{Fh}$$

Keterangan :

X^2 = Person's Chi Kuadrat

F0 = Frekuensi yang di observasi

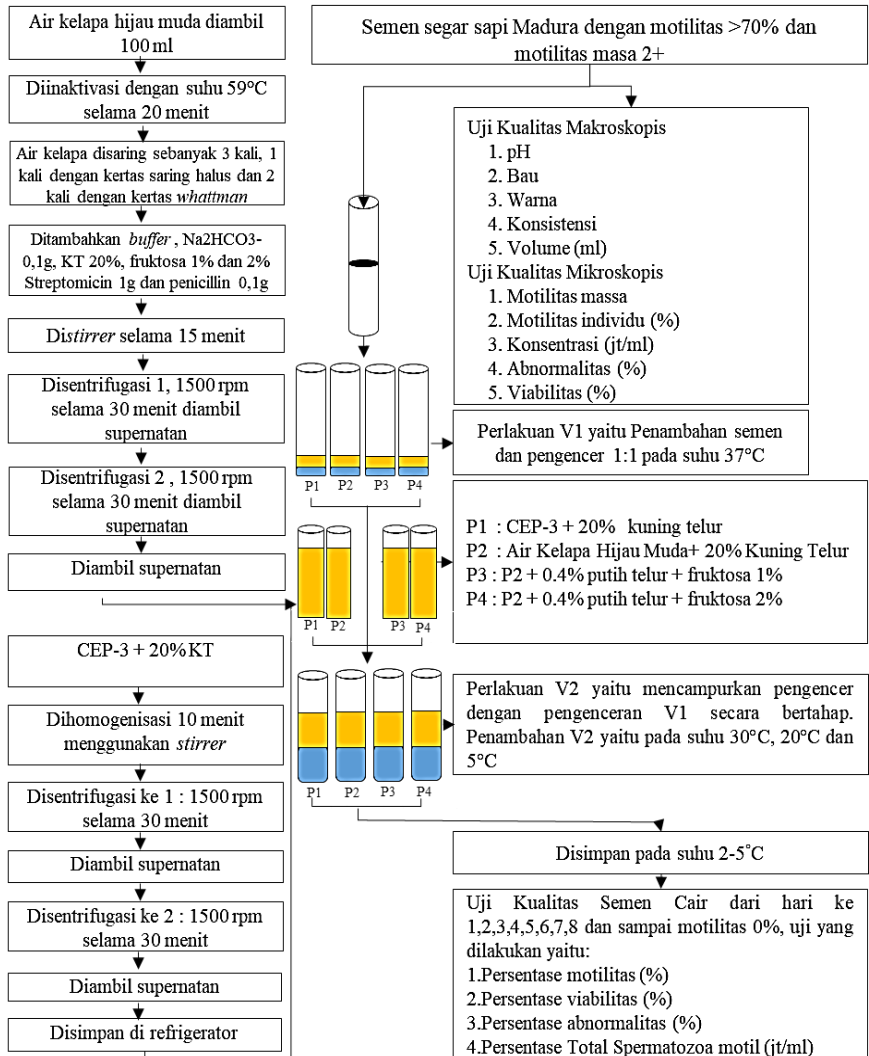
Fh = Frekuensi yang diharapkan

3.6 Batasan Istilah

- a. *Cool bottom* : Refrigerator bagian bawah yang digunakan untuk penurunan suhu pada proses penambahan volume pengencer.
- b. *Cold shock* : Cekaman dingin yang terjadi saat penurunan suhu dingin pada proses pengenceran.

- c. *Cool top* : Refrigerator bagian atas dengan suhu 5 °C.
- d. *Fase mounting* : Pemancingan pejantan menaiki betina tetapi tidak sampai ejakulasi sebanyak 3-5 kali.
- e. *Thin Albumin* : Bagian dari putih telur yang bersifat encer digunakan untuk menggantikan fungsi BSA pada pengencer CEP-3.

3.7 Kerangka Operasional



Gambar 2. Kerangka Operasional Penelitian

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1. Pemeriksaan Kualitas Semen Sapi Madura

Uji kualitas semen sapi Madura yaitu dilakukan setelah penampungan atau sebelum dilakukan proses pengenceran. Semen diperoleh dari dua ekor sapi Madura di Loka Sapi Potong Gati. Pemeriksaan yang dilakukan adalah pemeriksaan makroskopis dan mikroskopis. Pemeriksaan makroskopis meliputi volume (ml), bau, warna, konsistensi dan pH. Pemeriksaan mikroskopis meliputi motilitas massa, motilitas individu (%), viabilitas (%), abnormalitas (%), konsentrasi (jt/ml) dan total spermatozoa motil (jt/ml). Hasil uji kualitas semen sapi Madura dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4. Rataan Kualitas Semen Sapi Madura.

Pengamatan	Rata-Rata \pm SD
Uji Makroskopis	
Warna	Putih Susu
Konsistensi	Sedang
Bau	Khas Semen
Volume Perejakulasi (ml)	4,75 \pm 0,42
pH	6,60 \pm 0,13
Uji Mikroskopis	
Motilitas Massa	++
Motilitas Individu (%)	70,00 \pm 0,00
Viabilitas (%)	90,60 \pm 2,86
Abnormalitas (%)	2,13 \pm 0,94
Konsentrasi (Juta/ml)	1063,33 \pm 76,07
Total Spermatozoa motil (jt/ml)	744,33 \pm 53,25

Berdasarkan uji kualitas semen pada tabel 4 rata-rata Berdasarkan hasil uji kualitas semen pada tabel 4 bahwa, rata-

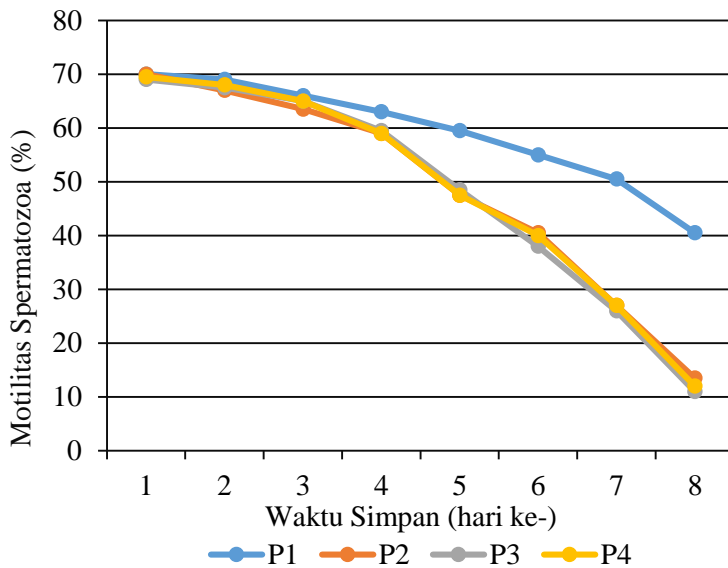
rata warna semen sapi Madura selama penampungan adalah putih susu dengan bau khas semen yang menunjukkan bahwa semen tersebut dalam kondisi normal. Susilawati (2013) menyatakan bahwa warna semen pada sapi berwarna putih kekuning-kuningan atau putih susu, hal ini karena adanya riboflavin atau adanya vitamin B2 dan bau semen sapi yaitu bau khas semen. Rata-rata volume semen sapi Madura selama penampungan adalah $4,75 \pm 0,38$ ml. Menurut Ratnawati dkk (2017) menyatakan bahwa volume semen pada sapi Madura adalah sebesar $5,7 \pm 0,5$ ml. Volume semen yang didapatkan selama penelitian menunjukkan bahwa volume semen sapi Madura lebih rendah dari laporan sebelumnya hal ini kemungkinan dipengaruhi oleh banyaknya fase *mounting* yang dilakukan sehingga semen yang didapatkan lebih sedikit. Volume semen dipengaruhi beberapa faktor yaitu umur pejantan, kondisi fisik, musim, keterampilan kolektor, frekuensi penampungan dan *fase mounting*. Rata-rata pH semen sapi Madura adalah $6,60 \pm 0,12$. Pengukuran pH dilakukan dengan menggunakan ose yang diletakan pada kertas pH BTB paper atau pH meter, pH semen sapi berkisar antara 6,4-6,7 (Susilawati, 2013). Menurut Ratnawati dkk (2017) menyatakan bahwa pH semen sapi Madura adalah $6,6 \pm 0,5$. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pH semen pada sapi Madura sama dengan penelitian sebelumnya artinya pH yang didapatkan yaitu normal tidak terkontaminasi dengan bahan lain. Konsistensi semen yang didapatkan yaitu sedang. Menurut Susilawati (2013) menyatakan bahwa konsistensi berkorelasi dengan konsentrasi spermatozoa, apabila konsistensi sedang maka konsentrasi spermatozoa yaitu 1000×10^6 - 1500×10^6 jt/ml.

Pemeriksaan uji mikroskopis selama penelitian yaitu motilitas masa 2+, motilitas individu $70 \pm 0,00\%$, viabilitas

90,60±2,86%, abnormalitas 2,13±0,94%, konsentrasi sedang yaitu sebesar 1063,33±76,07 juta/ml dan total spermatozoa moti yaitu sebesar 744,33±53,25 jt/ml. Pemeriksaan mikroskopis yang didapatkan selama penelitian menunjukkan bahwa semen layak untuk dilakukan pengenceran, hal ini sesuai dengan pendapatnya Susilawati (2013) menyatakan bahwa semen yang baik untuk dilakuakn pengenceran yaitu memiliki persentase motilitas spermatozoa dalam keadaan normal tidak kurang dari 70-90%, abnormalitas <20% dan konsentrasi sedang spermatozoa 1000 x10⁶ -1500 x 10⁶ jt/ml.

4.2. Persentase Motilitas Spermatozoa Pada Berbagai Perlakua Selama Penyimpanan dingin 2-5°C.

Motilitas atau daya gerak spermatozoa merupakan salah satu indikator yang mempengaruhi daya fertilitas spermatozoa untuk membuahi sel telur. Persentasi spermatozoa diamati setiap 24 jam sekali dimulai pada hari ke-1 sampai hari k-8 selama simpan dingin 2-5°C. Grafik persentase motilitas spermatozoa dapat ditampilkan pada Gambar 3.



Gambar 3. Persentase Motilitas Spermatozoa Selama Penyimpanan Pada Berbagai Perlakuan.

Rata-rata motilitas individu pada pada P1 (CEP-3 + 20% kuning telur) sebagai kontrol, P2 (air kelapa hijau muda + 20% kuning telur), P3 (P2 + 0,4% putih telur + 1% fruktosa), P4 (P2 + 0,4% putih telur + 2% fruktosa). Rataan persentase motilitas spermatozoa ditampilkan pada Tabel 5.

Tabel 5. Rataan Persentase Motilitas Spermatozoa Sapi Madura Pada Berbagai Perlakuan Selama Pendinginan.

Waktu Pengamatan	Motilitas (%)			
	P1	P2	P3	P4
Hari 1	70,00±0,00	70,00±0,00	69,00±2,11	69,50±1,58
Hari 2	69,00±3,16	67,00±3,50	67,50±3,54	68,00±3,50
Hari 3	66,00±5,68	63,50±6,69	65,00±6,67	65,00±4,08
Hari 4	63,00±5,37	59,00±5,68	59,50±5,99	59,00±6,58
Hari 5	59,50±5,50	47,50±7,91	48,50±7,84	47,50±5,40
Hari 6	55,00±4,71	40,50±10,12*	38,00±4,22*	40,00±8,50*
Hari 7	50,50±4,97	27,00±5,87	26,00±6,99	27,00±4,22
Hari 8	40,50±6,43*	13,50±8,51	11,00±6,58	12,00±6,75

Keterangan: *) Nilai perlakuan yang di uji *Person's Chi Square*

Rataan persentase motilitas spermatozoa selama penelitian menunjukkan bahwa pengencer P1 sebagai kontrol (80% CEP-3 + 0,4% putih telur + 20% kuning telur) selama penyimpanan dapat mempertahankan motilitas sampai 8 hari dan motilitas masih diatas standar 40% untuk dapat digunakan untuk IB dengan motilitas sebesar 40,50±6,43%. Perlakuan P3 (P2 + 0.4% putih telur + 1% Fruktosa) mampu mempertahankan motilitas spermatozoa sampai 5 hari selama penyimpanan dingin dengan motilitas sebesar 48,50±7,84% dan pada perlakuan P2 (80% Air Kelapa Hijau Muda + 20% kuning telur) dan P4 (P2 + 0.4% Putih Telur + 2% Fruktosa) mampu memperahankan motilitas spermatozoa sampai 6 hari penyimpanan yaitu motilitas spermatozoa berturut-turut sebesar 40,50±10,12% dan 40,00±8,50%. Persentase motilitas spermatozoa yang dapat digunakan untuk IB yaitu harus memiliki motilitas diatas 40% dan memiliki konsentrasi 25 jt/straw atau 100 jt/ml (Anonymous, 2017).

Analisis statistik menggunakan *Pearson's Chi Square* yaitu dengan nilai harapan motilitas spermatozoa 40%, pada perlakuan perlakuan P2 hari ke-6 menunjukkan perbedaan yang sangat nyata ($P < 0,01$) sedangkan motilitas spermatozoa pada perlakuan P1 hari ke-8, P3 dan P4 hari ke-6 menunjukkan tidak perbedaan nyata ($P > 0,05$). Total spermatozoa motil yang dapat diaplikasikan untuk IB dengan nilai harapan yaitu motilitas spermatozoa $> 40\%$ yaitu perlakuan P2, P3 dan P4 dapat digunakan selama 6 hari penyimpanan, sedangkan perlakuan P1 dapat digunakan selama 8 hari selama simpanan dingin $2-5^{\circ}\text{C}$.

Berdasarkan hasil tersebut maka putih telur mampu menggantikan BSA dalam mempertahankan motilitas spermatozoa pada semen cair sapi Madura sampai 8 hari penyimpanan. Persentase motilitas spermatozoa yang didapatkan dari penelitian Solikah dkk (2016) menyatakan bahwa menggantikan BSA dengan putih telur sebanyak 0,4% pada semen cair sapi Peranakan Ongole mampu mempertahankan motilitas spermatozoa sampai 6 hari. Menurut Sianturi dkk (2004) menyatakan bahwa putih telur ayam ras dapat digunakan sebagai albumin alternatif dalam mensubstitusi *Bovine Serum Albumin* (BSA) yaitu mempunyai harga yang murah, mudah didapat dan mampu mempertahankan motilitas spermatozoa. Bahan pengenceran air kelapa didapatkan motilitas spermatozoa mampu bertahan sampai 6 hari selama penyimpanan dingin yaitu pada perlakuan P2 dan P4, sedangkan pada perlakuan P3 dihari ke-6 motilitas spermatozoa dibawah 40%. Hasil penelitian ini lebih baik dari Audia dkk (2017) yang menyatakan bahwa motilitas spermatozoa pada kambing menggunakan pengenceran air kelapa hijau muda mampu bertahan sampai hari ke-2 dengan motilitas spermatozoa sebesar $48,33 \pm 20,17\%$. Persentase motilitas spermatozoa

selama penyimpanan dingin membutuhkan energi untuk metabolisme, untuk bergerak dan melindungi spermatozoa dari cekaman dingin. Penurunan persentase motilitas spermatozoa karena selama pendinginan terjadi metabolisme yang lambat, sehingga spermatozoa masih membutuhkan nutrisi untuk respirasi dan metabolisme (Susilawati dkk, 2016^b).

Fruktosa merupakan gula sederhana berfungsi sebagai sumber energi mampu mempertahankan tekanan osmotik dalam pengencer dan fruktosa sebagai krioprotektan ekstraseluler untuk melindungi selubung spermatozoa dari *cold shock*. Energi selain dari fruktosa yaitu kuning telur mengandung sumber energi untuk spermatozoa dan berfungsi untuk melindungi dari *cold shock* serta sebagai penyangga *buffer* (Atmaja *et al*, 2014). Penambahan gula sangat efektif dalam melindungi spermatozoa dari kerusakan kriopreservasi. Gula dimetabolisme melalui glukolisis, trisakarida kemudian menghasilkan energi *adenosine triphosphate* (ATP) yang hasilnya akan digunakan spermatozoa untuk bergerak (Herdis dkk, 2016). Gula sebagai krioprotektan ekstraseluler akan melindungi membran spermatozoa secara keseluruhan dari kerusakan mekanik, karena gula dalam keadaan beku akan membentuk kaca (*glass*) yang halus, sehingga tidak merusak spermatozoa (Herdis dkk, 2016). Spermatozoa selama penyimpanan membutuhkan kuning telur untuk menambah fluiditas membran yang dapat meningkatkan kemampuan fertilisasi, mengubah fase transisi lipid selama terjadi perubahan suhu sehingga dapat mengurangi sensitivitas terhadap perubahan suhu selama pendingin (Susilawati dkk, 2016^b).

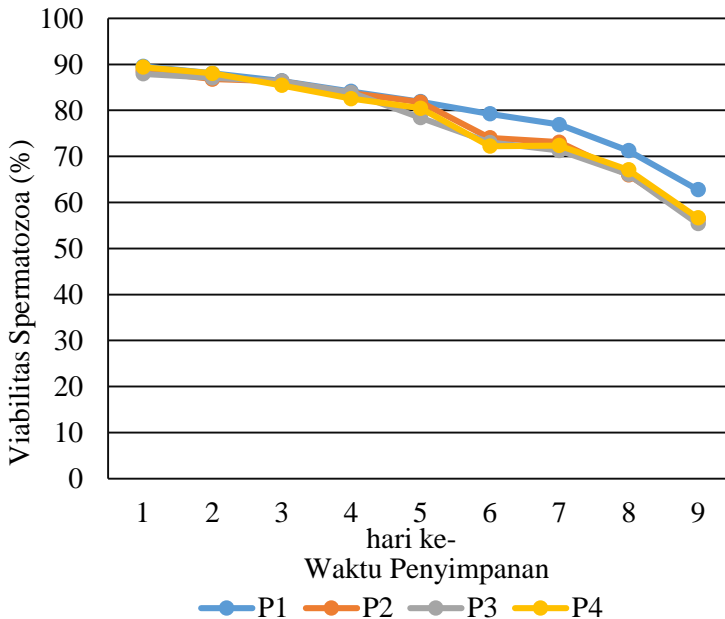
4.3. Persentase Viabilitas Spermatozoa selama Penyimpanan Suhu 2-5°C

Viabilitas adalah salah satu indikator terpenting untuk menentukan kualitas spermatozoa selama pengenceran (Costa *et al.*, 2016). Viabilitas (daya hidup) spermatozoa dapat diketahui dengan teknik pewarnaan eosin negrosin. Spermatozoa yang hidup ditandai dengan warna yang masih terang atau tidak menyerap warna sedangkan spermatozoa mati akan menyerap warna eosin negrosin dan spermatozoa berwarna sebagian dianggap mati akibat rusaknya membran spermatozoa. Membuat ulasan viabilitas dengan meneteskan satu ose semen cair dan eosin negrosin pada objek glass serta dihomogenkan kemudian ditutup dengan objek glass lain pada ujung objek glass dengan membentuk sudut 45° kemudian ditarik kearah yang lain dan sampel ditempatkan dislide hangat pada 37°C, hasil ulasan diamati menggunakan mikroskop cahaya dengan perbesaran 400 kali (Susilawati, 2013; Ducha *et al.*, 2017). Perbedaan spermatozoa hidup dan mati ditampilkan pada Gambar 4.



Gambar 4. Perbedaan Spermatozoa Hidup Berwarna Transparan (A) Dan Spermatozoa Mati Berwarna Pink (B) Selama Penyimpanan Pada Berbagai Perlakuan.

Persentase viabilitas spermatozoa selama penyimpanan dingin pada perlakuan P1, P2, P3 dan P4 menunjukkan adanya penurunan. Pola penurunan persentase viabilitas spermatozoa selama penyimpanan dingin ditampilkan pada Gambar 5.



Gambar 5. Persentase Viabilitas Spermatozoa Selama Penyimpanan Pada Berbagai Perlakuan.

Persentase viabilitas spermatozoa terus mengalami penurunan selama penyimpanan dingin. Semakin lama penyimpanan maka persentase spermatozoa motil atau hidup semakin sedikit. Solikah (2016) menyatakan bahwa persentase daya hidup spermatozoa mengalami penurunan karena terdapat perkembangan mikroorganisme didalam pengencer. Membran spermatozoa yang sudah rusak tidak dapat mempertahankan masuknya pewarna eosin negrosin kedalam spermatozoa. Rata-rata viabilitas spermatozoa pada pada P1 (CEP-3+20% kuning telur) sebagai kontrol, P2 (air kelapa hijau muda+20% kuning telur), P3 (P2 + 0,4% putih telur + 1% fruktosa), P4 (P2+ 0,4% putih telur + 2% fruktosa) ditampilkan pada Tabel 6.

Tabel 6. Rata-rata Persentase Viabilitas Spermatozoa Sapi Madura Pada Berbagai Perlakuan Selama Pendinginan.

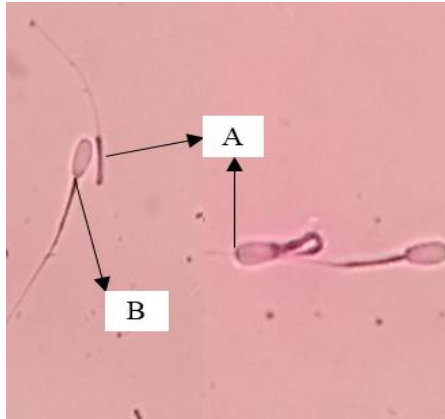
Waktu Pengamatan	Viabilitas (%)			
	P1	P2	P3	P4
Hari 1	89,58±2,16	88,62±4,59	87,93±4,41	89,39±3,79
Hari 2	88,04±2,82	86,78±4,45	87,06±4,06	88,03±4,08
Hari 3	86,39±4,89	86,30±4,98	86,33±5,47	85,43±4,00
Hari 4	84,11±3,05	83,76±7,26	83,87±5,78	82,56±6,86
Hari 5	81,88±6,07	81,78±7,83	78,42±8,23	80,45±7,93
Hari 6	79,23±9,14	74,02±4,55	73,01±3,40	72,23±2,44
Hari 7	76,92±8,66	73,08±5,20	71,28±3,50	72,37±4,00
Hari 8	71,24±5,27	65,95±6,20	66,09±6,85	67,05±6,91

Hasil persentase viabilitas diatas 70% didapatkan pada hari ke 1 sampai hari ke-8 pada pengencer P1 (71,24±5,27%), sedangkan nilai rata-rata persentase viabilitas spermatozoa menggunakan pengencer air kelapa sampai hari ke-6 yaitu berturut-turut P2 (73,08±5,20%), P3 (71,28±3,50%) dan P4 (72,37±4,00%). Persentase viabilitas terus mengalami penurunan selama penyimpanan suhu dingin, semakin lama penyimpanan maka persentase spermatozoa hidup semakin sedikit sebanding dengan persentase motilitas individu spermatozoa. Viabilitas akan terus menurun diakibatkan suhu dingin selama penyimpanan yaitu karena ketersediaan energi dan menurunnya pH karena peningkatan asam laktat hasil metabolisme spermatozoa serta kerusakan membran plasma spermatozoa selama penyimpanan. Solikah dkk (2016) menyatakan bahwa substitusi BSA dengan putih telur mampu

mempertahankan nilai viabilitas spermatozoa $\geq 70\%$ sampai hari ke-8. Susilawati dkk (2016) menyatakan bahwa fosfolipid yang terkandung didalam BSA berperan sebagai ekstraseluler krioprotektan yang melindungi membran spermatozoa pada proses penyimpanan pendinginan. Spermatozoa yang mati akan menurunkan persentase viabilitas, hal ini disebabkan karena spermatozoa kekurangan energi selama penyimpanan dingin (Indriani dkk, 2013). Menurunnya spermatozoa yang hidup dipengaruhi oleh naiknya suhu didalam refrigerator, hal ini akibat aktivitas membuka dan menutup pintu *refrigerator* selama melakukan pengecekan viabilitas serta metabolisme spermatozoa menghasilkan asam laktat yang menjadi salah satu faktor penghambat dan dapat menurunkan nilai viabilitas spermatozoa (Costa *et al*, 2016). Persentase viabilitas spermatozoa pada pengencer CEP-3 dan air kelapa tanpa kuning telur mengalami penurunan selama penyimpanan hari ke-8, penurunan persentase viabilitas spermatozoa disebabkan karena terjadinya kerusakan membran plasma dan membran akrosom akibat *cold shock* selama penyimpanan pada suhu rendah (Pereira *et al.*, 2010).

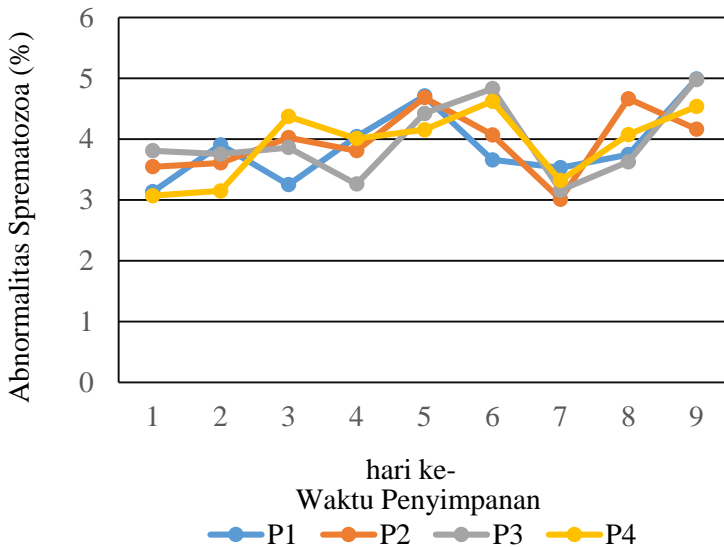
4.4. Persentase Abnormalitas Spermatozoa selama Penyimpanan Suhu 2-5°C

Susilawati (2013) menjelaskan bahwa abnormalitas terdapat dua macam yaitu abnormalitas primer dan sekunder. Abnormalitas primer meliputi kepala tanpa ekor, ekor ganda, kerusakan akrosom, *macrocephalus*, *microcephalus*, ekor melintang dan ekor *pyriform*. Abnormalitas sekunder meliputi ekor melipat, butiran sisa sitoplasma, kepala tanpa ekor (putus) dan ekor tanpa kepala (putus). Spermatozoa normal dan abnormal dapat dilihat pada Gambar 6.



Gambar 6. Perbedaan Spermatozoa Abnormal (A) Dan Spermatozoa Normal (B) Selama Penyimpanan Pada Berbagai Perlakuan.

Persentase abnormalitas spermatozoa selama penyimpanan dingin pada perlakuan P1, P2, P3 dan P4 menunjukkan adanya peningkatan. Pola peningkatan persentase abnormalitas spermatozoa ditampilkan pada Gambar 7.



Gambar 7. Pola Peningkatan Persentase Abnormalitas Spermatozoa Sapi Madura Selama Penyimpanan Pada Berbagai Perlakuan.

Persentase abnormalitas spermatozoa selama penyimpanan dingin pada suhu 2-5°C pada penelitian mengalami rata-rata abnormalitas yang fluktuatif sebanding waktu penyimpanan. Abnormalitas pada sapi maksimal 20% atau lebih maka akan menurunkan fertilitas (Susilawati, 2013). Rata-rata persentase abnormalitas spermatozoa mengalami perubahan selama penyimpanan suhu dingin. Hasil pengamatan rata-rata abnormalitas spermatozoa dapat dilihat pada Tabel 7.

Tabel 7. Rata-rata Persentase Abnormalitas Spermatozoa Sapi Madura Pada Berbagai Perlakuan Selama Pendinginan.

Waktu Pengamatan	Abnormalitas (%)			
	P1	P2	P3	P4
Hari 1	3,14±1,29	3,55±1,37	3,81±2,61	3,07±1,21
Hari 2	3,91±2,52	3,61±1,56	3,75±1,12	3,15±0,93
Hari 3	3,25±1,79	4,03±2,28	3,86±1,57	4,37±1,52
Hari 4	4,04±1,48	3,81±2,01	3,26±2,34	4,01±1,90
Hari 5	4,71±2,09	4,68±2,15	4,42±1,95	4,15±1,94
Hari 6	3,66±1,69	4,07±1,96	4,83±1,93	4,62±1,56
Hari 7	3,53±1,38	3,01±2,21	3,16±1,00	3,32±1,32
Hari 8	3,75±2,02	4,66±3,94	3,63±1,65	4,08±1,35

Persentase abnormalitas spermatozoa mengalami peningkatan selama penyimpanan pada perlakuan CEP-3 dan air kelapa hijau muda seperti pada Tabel 7. Nilai abnormalitas tertinggi sampai penyimpanan hari ke-8 yaitu pada perlakuan kontrol P2 sebesar 4,66±3,94% dan diikuti oleh perlakuan P4, P1 dan P3 dengan nilai abnormalitas berturut-turut sebesar 4,08±1,35%, 3,75±2,02% dan 3,63±1,65%. Nilai abnormalitas paling rendah pada pengenceran air kelapa hijau muda yaitu pada perlakuan P3 yaitu sebesar 3,63±1,65% selama penyimpanan sampai hari ke-8 masih dibawah 20% artinya masih baik digunakan (IB). Nilai abnormalitas sesuai dengan pernyataan Susilawati (2013) menyatakan bahwa abnormalitas yang baik untuk diaplikasikan IB yaitu memiliki nilai abnormalitas spermatozoa dibawah 20%. Abnormalitas yang mengalami peningkatan adalah abnormalitas sekunder, terjadi saat proses pembuatan preparat ulas seperti putusnya antara ekor dengan kepala spermatozoa, dan bentuk ekor yang melingkar serta terjadi karena lamanya penyimpanan.

Abnormal pada spermatotoza, kemungkinan disebabkan oleh *cold shock* akibat dari penyimpanan dingin dan terdapat peningkatan radikal bebas didalam semen cair akibat sisa dari proses metabolisme spermatozoa (Susilawati, 2016^b).

4.5. Total Spermatozoa Motil Sapi Madura

Penilain kualitas total spermatozoa motil bertujuan untuk melihat peluang keberhasilan fertilisasi yaitu ditentukan oleh spermatozoa yang progresif saat ejakulat. Susilawati (2013) menyatakan bahwa total spermatozoa motil dapat dihitung dengan mengalikan volume semen dengan konsentrasi kemudian dikalikan dengan persentase motilitas individu spermatozoa. Standar total spermatozoa motil yang digunakan dalam inseminasi pada sapi adalah 40 juta/ ml. Rataan hasil perhitungan total spermatozoa motil pada perlakuan air kelapa pada penyimpanan hari ke-6 dan perlakuan CEP-3 pada penyimpanan hari ke-8 dapat dilihat pada Tabel 8.

Tabel 8. Rata-rata Persentase Total Spermatozoa Motil Sapi Madura Pada Berbagai Perlakuan Selama Pendinginan.

Perlakuan	Waktu	Rata-rata total spermatozoa motil (jt/ml)
P1	Hari ke-8	46,50±6,41**
P2	Hari ke-6	46,20±13,95***
P3	Hari ke-6	42,10±5,54*
P4	Hari ke-6	44,15±10,69***
Nilai Harapan		40,00

Keterangan:

*) : Tidak berbeda nyata ($P>0,05$).

**) : Berbeda yang nyata ($P<0,05$).

***) : Berbeda sangat nyata ($P<0,01$).

Berdasarkan hasil penelitian menunjukkan bahwa total spermatozoa motil pada masing-masing perlakuan lebih besar dari nilai harapan yaitu 40 juta/ml. Nilai harapan 40 jt/ml spermatozoa motil per milliliter untuk inseminasi buatan yaitu motilitas spermatozoa 40% dan spermatozoa motil 40 juta/ml (Anonim, 2017). Analisis dengan *Person's Chi Square* nilai harapan 40 juta/ml menunjukkan perbedaan yang sangat nyata ($P < 0,01$) pada P2 dan P4 selama penyimpanan sampai hari ke-6 artinya bahwa perlakuan air kelapa hijau muda pada perlakuan tersebut dapat diaplikasikan untuk IB karena memiliki total spermatozoa motil diatas standar yaitu berturut-turut sebesar $46,20 \pm 13,95$ jt/ml dan $44,15 \pm 10,69$ jt/ml. Perlakuan P3 tidak menunjukan perbedaan nyata ($P > 0,05$) artinya pada pengenceran tersebut sama dengan nilai harapan 40 jt/ml namun biasa diaplikasikan untuk IB dengan total spermatozoa motil sebesar $42,10 \pm 5,54$ jt/ml, serta total spermatozoa motil pada P1 penyimpanan hari ke-8 menunjukan perbedaan nyata ($P < 0,05$) , pada pengenceran CEP-3 dapat diaplikasikan untuk IB yaitu selama 8 hari penyimpanan dingin dengan total spermatozoa motil sebesar $46,50 \pm 6,41$ jt/ml.

Pengenceran CEP-3 yaitu menggantikan *Bovine Serum Albumin* (BSA) dengan putih telur mampu mempertahankan motilitas spermatozoa sampai hari ke-8. Putih telur ternyata sangat baik untuk menggantikan BSA dengan harga yang murah dan mudah didapat, dibandingkan dengan BSA yang bahan mahal dan bahan tersebut sulit didapatkan. Menurut Sholikah dkk (2016) menyatakan bahwa substitusi BSA dengan putih telur ayam ras mampu mempertahankan motilitas spermatozoa sampai penyimpanan hari ke-6. Ducha dkk (2013) menyatakan bahwa pada pengencer CEP-2 dengan penambahan 20% kuning telur pada sapi Limosin mampu mempertahankan

motilitas spermatozoa sampai hari ke-8 dengan rata-rata motilitas sebesar $87,46 \pm 5,40$ jt/ml karena dengan penambahan kuning telur mampu melindungi spermatozoa dari *cold shock* dan sehingga dapat memperetahankan motilitas spermatozoa selama penyimpanan dingin. Pengenceran dengan berbagai formulasi bahan dasar air kelapa hijau muda dapat diaplikasikan untuk IB sampai penyimpanan hari ke-6, bahwa didalam air kelapa diperlukan gula sederhana lebih banyak untuk menunjang keberlangsungan hidup spermatozoa untuk bergerak dan melindungi spermatozoa dari cekaman dingin (*cold shock*). Metabolisme spermatozoa berlangsung secara *aerob* maupun *anaerob*. Ketika metabolisme dalam keadaan aerob maka metabolisme fruktosa 9 kali lebih efisien dalam menghasilkan energi, namun metabolisme spermatozoa dalam keadaan *anaerob* akan menghasilkan asam laktat yang mengakibatkan racun dan mengakibatkan kematian bagi spermatozoa (Kurniawan dkk, 2013).

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1. Kesimpulan

1. Formulasi bahan pengencer terbaik pada air kelapa hijau muda yaitu pada pengencer P2 (air kelapa hijau muda + 20% kuning telur) dapat mempertahankan kualitas semen cair selama 6 hari selama simpan dingin 2-5°C dengan nilai motilitas individu sebesar $40,50 \pm 10,12\%$ artinya bahwa dengan penambahan 0,4% putih telur dan penambahan fruktosa 1% dan 2% tidak mampu mempertahankan motilitas spermatozoa selama simpan dingin 2-5°C.
2. Pengencer sebagai kontrol yaitu P1 (CEP-3 + 20% kuning telur), menunjukkan pengencer sebagai kontrol dapat disimpan selama 8 hari selama simpan dingin dengan motilitas sebesar $40,50 \pm 6,43\%$, dengan penambahan putih telur dalam menggantikan BSA, dapat mempertahankan motilitas selama simpan dingin 2-5°C.

2.1. Saran

Saran bahan pengencer yang baik untuk diaplikasi IB pada semen cair adalah formulasi bahan pengencer terbaik pada air kelapa hijau muda yaitu pada perlakuan P2 (air kelapa hijau muda + 20% kuning telur) dapat disimpan dan aplikasikan untuk IB selama 6 hari simpan dingin. Bahan pengencer P1 (CEP-3 + 20% kuning telur) sebagai kontrol yaitu dapat disimpan dan dapat digunakan selama 8 hari simpan dingin 2-5°C.

DAFTAR PUSTAKA

- Anonimous. 2017. **Semen Beku-Bagian 1: Sapi**. Badan Standarisasi Nasional. SNI 4869-1:2017. BSN. Jakarta.
- Atmaja, W.K, M. K Budiasa dan Wayan. 2014. Bebas Penambahan Fruktosa Mempertahankan Motilitas dan Daya Hidup Spermatozoa Kalkun yang Disimpan pada Suhu 4°C. **Indonesia Medicus Veterinus**. 3(4) : 318-327
- Audia, R. P., M. A., Salim, N. Isnaini, dan T.Susilawati. 2017. Pengaruh Perbedaan Kematangan Air Kelapa Hijau Sebagai Bahan Pengencer Yang Ditambah 10% Kuning Telur Terhadap Kualitas Semen Cair Kambing Boer. **J. Ternak Tropika**. 18 (1): 58-68.
- Ax, R., M. Dally, B. Didion, R. Lenz, C. Love, D. Varner, Hafez, and M. Bellin. 2008. Semen evaluation in reproduction in farm animal. 7th edition. Edited by Hafez, E.S.E. Co. Director. Reproductive Health Kiawah Island. South Carolina. USA: 365-370.
- Azzahra, F. Y., E.T. Setiatin, dan D. Samsudewa. 2016. Evaluasi Motilitas dan Persentase Hidup Semen Segar Sapi PO Kebumen Pejantan Muda. **Jurnal Sain Peternakan Indonesia**. 11 (2): 99-107.
- Costa, N.D., T. Susilawati, N. Isnaini and M. N. Ihsan. 2016. Effect of Different Dilution Materials Usage on Indonesian Peranakan Ongole Bull Sperm Quality During Cooling Process. **IAJPS**. 3(4): 379-385
- Dwitarizki, N.D., Ismaya, dan W. Asmarawati. 2015. Pengaruh Pengenceran Sperma Dengan Air Kelapa Dan Aras Kuning Telur Itik Serta Lama Penyimpanan Terhadap Motilitas Dan

Viabilitas Spermatozoa Domba Garut Pada Penyimpanan 5°C. **Buletin Peternakan**. 39(3): 149-156

Ducha, N., T. Susilawati, Aulanni'am, S. Wahyuningsih, dan M. Pangestu. 2012. Ultrastructure and Fertilizing Ability of Limousin Bull Sperm After Storage in CEP-2 Extender with and without Egg Yolk. **Pakistan Journal of Biological Sciences**. 12 (20): 979-985.

_____, T. Susilawati, Aulanni'am, dan S. Wahyuningsih. 2013. Motilitas dan Viabilitas Spermatozoa Sapi Limousin Selama Penyimpanan pada Refrigerator dalam Pengencer Cep-2 Dengan Suplementasi Kuning Telur. **Jurnal Kedokteran Hewan**. 7 (1): 5-8

_____, D. Hariani, dan W. Budijastuti. 2017. The Relationship Of Physical and Chemical Conditions of CEP Diluent With Egg Yolk Addition to Bull Spermatozoa Quality Before and after Storage at Temperaturof 4-5°C. **The 2nd International Joint Conference on Science and Technology**. 1-6 doi :10.1088/1742-6596/953/1/01220

Farapti dan S. Sayogo. 2014. Air Kelapa Muda Pengaruhnya terhadap Tekanan Darah. **CDK**. 41(12): 896-900

Garner, D. L. and E. S. E Hafez. 2008. **Spermatozoa and seminal plasma in reproduction in farm animals 7th edition**. Blackwell Publishing Professional. USA. 7: 96-109.

Hayati, R. 2009. Perbandingan Susunan dan Kandungan Asam Lemak Kelapa Muda dan Kelapa Tua (*Cocos nucifera* L) dengan Metode Gas Kromatografi. **J. Floratek**. 4(1): 18-28.

Herdis, I.W.A Darmawan, dan M. Rizal. 2016. Penambahan Beberapa Jenis Gula Dapat Meningkatkan Kualitas Spermatozoa Beku

- Asal Epididimis Ternak Domba. **Jurnal Kedokteran Hewan**. 10(2): 200-204
- Hoesni, F. 2016. Pengaruh Penggunaan Tris Dalam Pengencer Susu Skim Terhadap Resistensi Spermatozoa Sapi Simmental Pasca Pembekuan. **Jurnal Ilmu-Ilmu Peternakan**. 119(2): 77-82.
- Hopkins, S.M., and L. E. Evans. 2003. **Artificial Insemination in Mc. Donald Veterinary Endocrinology and Reproduction**. 5th ed by M.H. Pineda. Black well publishing: 341-375
- Indriani, T. Susilawati, dan S. Wahyuningsih. 2013. Daya Hidup Spermatozoa Sapi Limousin yang Dipreservasi dengan Metode Water Jacket dan Free Water Jacket. **Jurnal Veteriner**. 14(3): 379-386.
- Kutsiyah, F. 2012. Analisis Pembibitan Sapi Potong Di Pulau Madura. **Wartazoa**. 22(3). 113-126
- Mugiyati, M. A., Salim, N. Isnaini, dan T.Susilawati. 2017. Pengaruh Air Kelapa Merah Yang Muda Dan Tua Sebagai Pengencer Terhadap Kualitas Semen Kambing Boer Selama Penyimpanan Dingin. **J. Ternak Tropika**. 18(1): 20-26
- Pereira, G.R., E.G. Becker, L.C. Siqueira, R. Ferreira, C.K. Severo, V.S. Truzzi, J.F.C. Oliveira, and P.B.D. Goncalves. 2010. Assesment of Bovine Spermatozoa Viability Using Different Cooling Protocols Prior to Cryopreservation. **Italian J. Anim. Sci**. 9(4): 234-237.
- Ratnawati, D., N. Insani dan T. Susilawati. 2017. Pemanfaatan casa dalam observasi motilitas spermatozoa semen cair Sapi Madura dalam pengencer berbeda. **Jurnal Ilmu-Ilmu Peternakan**. 27 (1): 80 – 95

- Rizal, M. 2009. Daya hidup spermatozoa epididimis sapi Bali yang dipreservasi pada suhu 3–5°C dalam pengencer tris dengan konsentrasi laktosa yang berbeda. **Jurnal Ilmu Ternak dan Veteriner**. 14(2): 142-149.
- Salim, M.A., T. Susilawati, dan S. Wahyuningsih. 2012. Pengaruh Metode Thawing terhadap Kualitas Semen Beku Sapi Bali, Sapi Madura dan Sapi PO. **Agripet**. 12(2):14-20
- Sholikhah, N., N. Isnaini., A. P.A. Yekti, dan T. Susilawati. 2016. Pengaruh Penggantian *Bovine Serum Albumin* (BSA) dengan Putih Telur pada Pengencer CEP-2 Terhadap Kualitas Semen Sapi Peranakan Ongole pada Suhu Penyimpanan 3-5°C. **Jurnal Ilmu-Ilmu Peternakan**. 26(1):7-15.
- Susilawati, T. 2011. **Spermatology**. Malang. UB Press. ISBN: 978-602-8960-04-5
- _____. 2013. **Pedoman Inseminasi Buatan Pada Ternak**. Malang: UB Press. ISBN: 978-602-203-458-2.
- _____. N. Isnaini, A.P.A.Yekti, I. Nurjanah, Errico dan N. D. Costa. 2016^a. Keberhasilan inseminasi buatan menggunakan semen beku dan semen cair pada sapi Peranakan Ongole. **Jurnal Ilmu-Ilmu Peternakan**. 26 (3): 14-19
- _____. , F. E. Wahyudi, I. Anggraeni, N. Isnaini, dan M. N. Ihsan. 2016^b. Penggantian Bovine Serum Albumin pada Pengencer CEP-2 dengan Serum Darah Sapi dan Putih Telur Terhadap Kualitas Semen Cair Sapi Limousin Selama Pendinginan. **Jurnal Kedokteran Hewan**. 10(2): 98-102.
- _____. 2017^a. **Sapi Lokal Indonesia (Jawa Timur dan Bali)**. Malang, UB Press. ISBN: 978-602-432-233-5
- _____. 2017^b. **Fisiologi Reproduksi Ternak (Dasar Manajemen Ternak)**. Malang. ISBN: 978-602-432-245-8

- Verberckmoes, S., A.V. Some., J. Dewulf., I.D. Pauw, and A. Kruif. 2004. Storage of Fresh Bovine Semen in a Diluent Based on the Ionic Composition of Cauda Epididymal Plasma. **Journal of Reprod Dom Anim.** 39(6):1-7.
- Wiratri,V.D.B., T.Susilawati, dan S. Wahjuningsih. 2015. Kualitas Semen Sapi Limousin Pada Pengencer Yang Berbeda Selama Pendinginan. **J. Ternak Tropika.** 15(1): 13-20
- Yohana, T., N. Ducha, dan Rahardjo. 2014. Pengaruh Pengencer Sintetis dan Alami Terhadap Motilitas Spermatozoa Sapi Brahman Selama Penyimpanan dalam Suhu Dingin. **Lentera Bio.** 3(3): 261–265.
- Yong, J.W.H., L. Ge, Y. F. Ng and S. N. Tan. 2009. The Chemical Composition and Biological Properties of Coconut (Cocos nucifera L.) Water. **Molecules.** 14 : 5144-5164.

